Gélose MacCONKEY Sorbitol (CT-SMAC base)

DOMAINE D'UTILISATION

La gélose MacCONKEY Sorbitol (CT-SMAC) est un milieu sélectif utilisé pour l'isolement et la différenciation du sérotype O157:H7 d'*Escherichia coli* à partir de l'eau, du lait, de la viande de bœuf et des autres produits alimentaires.

HISTORIQUE

Le sérotype O157:H7 d'*Escherichia coli* est un sérotype pathogène, identifié pour la première fois en 1982, comme agent responsable de colites hémorragiques. L'alimentation d'origine animale est la source principale de contamination humaine. La viande de bœuf, de porc, les volailles et certains produits laitiers non pasteurisés ont été incriminés dans les toxi-infections à *Escherichia coli* O157:H7. Ce microorganisme a également été isolé à partir de pommes de terre, de cidre et d'eau du robinet.

En 1985, Farmer et Davis confirment les travaux de Wells *et al.* (1983), en démontrant que le sérotype O157:H7 se caractérise par son incapacité à fermenter le sorbitol, alors que 80% des souches d'*Escherichia coli* sont sorbitol-positifs. En 1986, March et Ratnam soulignent l'intérêt de l'utilisation de la gélose MacCONKEY-Sorbitol pour la détection des colonies d'*Escherichia coli* O157:H7. En 1991, Chapman introduit l'utilisation du céfixime pour inhiber les *Proteus*. En 1993, Zadik combine l'action du tellurite de potassium au céfixime. L'addition de ces composés dans la gélose, augmente la fréquence de détection des colonies d'*Escherichia coli* O157:H7, en éliminant de manière importante les microorganismes de la microflore secondaire.

PRINCIPES

- La polypeptone favorise la croissance des *Escherichia coli* O157:H7.
- Les microorganismes sorbitol-négatifs (notamment O157:H7) présentent des colonies incolores.
- Les microorganismes capables de fermenter le sorbitol sont mis en évidence par le virage au rouge du rouge neutre.
- La microflore secondaire est inhibée par l'association entre les sels biliaires, le cristal violet, le céfixime et le tellurite de potassium.

PREPARATION

- Mettre en suspension 50,0 g de milieu déshydraté de base (BK147) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en flacons, à raison de 100 mL par flacon.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

NOTA :

Une liquéfaction partielle de l'agar entraînera inévitablement une altération significative de la consistance du gel du milieu solidifié, après stérilisation et refroidissement.

MODE D'EMPLOI

- Faire fondre le milieu (s'il est préparé à l'avance).
- Refroidir et maintenir le milieu à 47°C.
- Ajouter stérilement 1 mL de supplément sélectif reconstitué (BS037) par flacon.
- Homogénéiser parfaitement.
- Couler en boîtes de Petri stériles.
- Laisser solidifier sur une surface froide.
- Faire sécher les boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert.
- Ensemencer en stries l'inoculum à partir d'un bouillon d'enrichissement utilisé pour la recherche des *Escherichia coli* O157:H7, à la surface des boîtes, afin d'obtenir des colonies isolées.
- Incuber à 37°C pendant 24 heures.

LECTURE

Après 24 heures d'incubation, *Escherichia coli* O157:H7 forme des colonies lisses, incolores, pouvant présenter un halo orangé d'alcalinisation. La spécificité du milieu n'étant pas totale, les colonies suspectes doivent être soumises à un test sérologique d'agglutination sur lame à l'aide d'antisérums O157.

FORMULE - TYPE du milieu complet

(pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone ..... 17,0 g
- Peptone pepsique de viande ..... 3,0 g
- D-Sorbitol ..... 10,0 g
- Sels biliaires n°3 ..... 1,5 g
- Chlorure de sodium ..... 5,0 g
- Rouge neutre ..... 30,0 mg
- Cristal violet ..... 1,0 mg
- Céfixime ..... 0,05 mg
- Tellurite de potassium ..... 2,5 mg
- Agar agar bactériologique ..... 13,5 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,1 ± 0,2.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

CONTRÔLE QUALITE

- Milieu déshydraté : poudre beige rosé, fluide et homogène.
- Milieu préparé : gélose rouge violacé.
- Réponse culturale typique après 24 heures d'incubation à 37°C (méthode qualitative d'ensemencement) :

Microorganismes		Croissance	Caractéristiques
Escherichia coli O157:H7	ATCC® 43895	bonne, score 2	colonies incolores
Escherichia coli O157:H7	ATCC 35150	bonne, score 2	colonies incolores
Escherichia coli (sorbitol-positif)	ATCC 25922	partiellement à complètement inhibée, score 0-1	colonies rouges
Enterococcus faecalis	ATCC 29212	inhibée, score 0	
Staphylococcus aureus	ATCC 25923	inhibée, score 0	

STOCKAGE / CONSERVATION

Milieu de base déshydraté : 2-30°C.
- La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.
- Milieu de base préparé en flacons : 6 mois à 2-8°C (à titre indicatif).
- Milieu complet préparé, en boîtes, avec supplément : 8 jours à 2-8°C, à l'abri de la lumière (à titre indicatif).

Supplément sélectif Céfixime-Tellurite pour gélose CT-SMAC :
- Stocker entre 2 et 8°C, à l'abri de la lumière.
- La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

PRESENTATION

Code

Milieu de base déshydraté
(sans céfixime, ni tellurite de potassium) :
- Flacon de 500 g — BK147HA

Supplément sélectif Céfixime-Tellurite pour gélose CT-SMAC :
- Coffret de 10 flacons qsp 500 mL — BS03708

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Wells, J. G., B. R. Davis, I. K. Wachsmuth, L. W. Riley, R. S. Remis, R. Sokolow, and G. K. Morris. 1983. Laboratory investigation of hemorrhagic colitis outbreaks associated with a rare *Escherichia coli* serotype. J. Clin. Microbiol. 18 : 512-520.

Farmer, J. J. III, and B. R. Davis. 1985. H7 antiserum-sorbitol fermentation medium : a single tube screening medium for detecting *Escherichia coli* O157:H7 associated with hemorrhagic colitis. J. Clin. Microbiol. 22 : 620-625.

March, S. B., and S. Ratnam. 1986. Sorbitol-MacConkey medium for detection of *Escherichia coli* O157 : H7 associated with hemorrhagic colitis. J. Clin. Microbiol. 23 : 869-872.

Chapman, P. A., C. A. Siddons, P. M. Zadik, and L. Jewes. 1991. An improved selective medium for the isolation of *Escherichia coli* O157. J. Med. Microbiol. 35 : 107-110.

Zadik, P. M., P. A. Chapman, and C. A. Siddons. 1993. Use tellurite for the selection of verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157. J. Med. Microbiol. 39 : 155-158.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

NF EN ISO 16654 (V 08-032). Juillet 2001. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche des *Escherichia coli* O157.

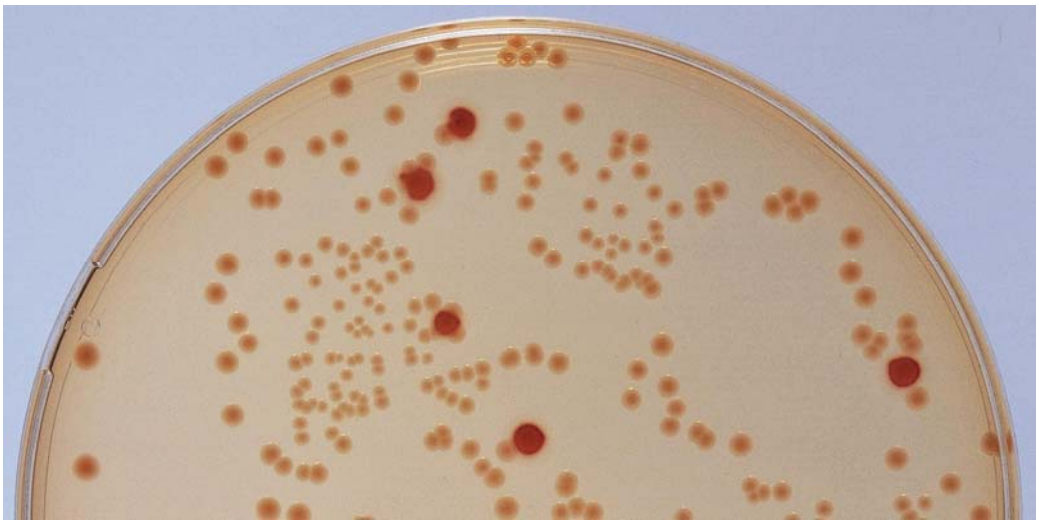
XP CEN ISO/TS 11133-2 (V 08-104-2). Janvier 2004. Microbiologie des aliments. Guide pour la préparation et la production des milieux de culture. Partie 2 : Guide général pour les essais de performance des milieux de culture.

SUPPORT PHOTO

Référence produit : [BK147HA + BS03708]

Utilisation : L'isolement et la différenciation du sérotype O157:H7 d'*Escherichia coli* à partir de l'eau, du lait, de la viande de bœuf et des autres produits alimentaires

---



Escherichia coli O157:H7

Gélose de MacCONKEY Sorbitol (CT-SMAC)
Réf : **BK147HA + BS03708**
Incubation : 24 heures / 37°C
Caractéristiques : *E. coli* O157:H7 : colonies lisses, incolores, pouvant présenter un halo orangé d'alcalinisation. Les colonies sont légèrement colorées de façon artificielle par l'absorption des colorants présents dans la formulation du milieu.
E. coli **non-**O157:H7 : colonies rouges, de taille nettement supérieure.

Les mentions portées sur l'étiquette sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document.
Les informations et les spécifications contenues dans cette fiche technique ont été établies à la date du 2009-02-10.
Elles sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.
Code document : BK147/F/2003-01 : 4.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr